

中南林业科技大学学报

Journal of Central South University of Forestry & Technology

ISSN 1673-923X，CN 43-1470/S

《中南林业科技大学学报》2026年第10期

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923X.2026.10.019

论文标题： 珍稀濒危树种小叶红豆离体快繁技术体系的构建

作　　者： 龙超霞，王 言，颜鹏露，等

收稿日期： 2026-01-14

引文格式： 龙超霞,王言,颜鹏露,等.珍稀濒危树种小叶红豆离体快繁技术体系的构建[J].中南林业科技大学学报,2026,46(10):210-219.

Long C X, Wang Y, Yan P L, et al. Establishment of an in vitro rapid propagation system for the rare and endangered tree species *Ormosia microphylla*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026,46(10):210-219.

相关论文推荐

Recommended articles

珍稀树种红豆树幼苗配方施肥研究

Research on fertilization formula for seedlings of rare species *Ormosia hosiei*

轻基质配方对红豆树容器苗生长和生理的影响

Effects of light substrates formula on growth and physiology of *Ormosia hosiei* container seedlings

不同林龄红豆树土壤真菌群落组成和多样性

Composition structure and diversity of soil fungi community in *Ormosia hosiei* plantations at different ages

接种根瘤菌对红豆树幼苗生长及生理的影响

Effect of inoculating rhizobia on growth and physiological characteristics of *Ormosia hosiei* seedlings

不同基质配比对木荚红豆容器苗生长及生理特性的影响

Effects of different substrate ratios on physiological characteristics of *Ormosia xylocarpa* container seedlings

直干桉高效组培快繁体系构建及高繁殖能力基因型筛选

Construction of a highly efficient tissue culture and rapid propagation system for *Eucalyptus maidenii* and screening of genotypes with high reproductive capacity

Doi:10.14067/j.cnki.1673-923x.2026.10.019
http: //qks.csuft.edu.cn

珍稀濒危树种小叶红豆离体快繁技术体系的构建

龙超霞，王　言，颜鹏露，韦小丽
（贵州大学 林学院，贵州 贵阳 550025）

摘　要：【目的】小叶红豆 *Ormosia microphylla* 是我国特有的珍稀濒危树种，属于国家一级保护野生植物，具有极高的经济与生态价值。由于种子来源有限，传统的种子育苗方法繁殖系数低，因而组织培养技术成为小叶红豆快速繁殖的重要途径，本研究旨在探讨小叶红豆的组培快繁体系。【方法】以小叶红豆成熟种子为材料进行无菌苗培养试验，筛选出最佳种子消毒方案；以萌发的无菌苗带芽茎段为外植体，采用 $L_9(3^3)$ 正交试验设计筛选出最佳诱导与增殖培养基；在继代培养阶段，分析了不同继代次数对增殖效果的影响；最后，通过生根及移栽试验，筛选出最佳的生根培养基和最适移栽基质。【结果】无菌苗培养的最佳种子消毒方案为保留种皮并用 2% NaClO 溶液消毒 12 min，该条件下未出现污染，无菌苗获得率为 70.37%，褐化率为 23.23%。最佳增殖培养基为 MS+1.5 mg·L^{-1} 6-BA+0.15 mg·L^{-1} IAA，增殖系数为 5.23，平均芽苗高为 3.59 cm。继代培养中，第 3 次继代的增殖效果最佳，增殖系数为 5.33。最佳生根培养基为 1/2 MS + 0.3 mg·L^{-1} NAA，生根率 93.33%，平均生根数 3.95 条，平均根长 3.63 cm。以蛭石∶珍珠岩（1∶1）为基质移栽成活率最高，为 95.56%。【结论】本研究建立了一套较稳定高效的小叶红豆离体快繁技术体系，通过对外植体灭菌、芽诱导与增殖、继代培养和生根移栽等关键环节的试验研究，为小叶红豆种质资源保护与规模化繁殖提供理论依据与技术支撑。

关键词：小叶红豆；离体快繁；增殖培养；生根培养；炼苗与移栽
中图分类号：S722.3^{+}7　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1673-923X(2026)10-0210-10

Establishment of an *in vitro* rapid propagation system for the rare and endangered tree species *Ormosia microphylla*

Long Chaoxia, Wang Yan, Yan Penglu, Wei Xiaoli

(College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China)

Abstract:【Objective】*Ormosia microphylla* is a rare and endangered tree species endemic to China and is listed as a Class I nationally protected wild plant. It possesses high economic and ecological value. Due to limited seed sources, traditional seed propagation methods have a low propagation coefficient; therefore, tissue culture technology has become an important approach for the rapid propagation of *O. microphylla*. This study aimed to establish an in vitro rapid propagation system for *O. microphylla*.【Method】Mature seeds of *O. microphylla* were used to establish an aseptic seedling culture system, and the optimal seed sterilization protocol was screened. Bud-bearing stem segments from germinated aseptic seedlings were used as explants, and an $L_9(3^3)$ orthogonal experimental design was employed to determine the optimal medium for shoot induction and proliferation. The effects of different subculture cycles on proliferation were analyzed during the subculture stage. Finally, rooting and transplanting experiments were conducted to screen for the optimal rooting medium and the most suitable transplanting substrate.【Result】The optimal sterilization protocol was to retain the seed coat and disinfect the seeds with 2% NaClO for 12 min, under which no contamination occurred, with an aseptic seedling rate of 70.37% and a browning rate of 23.23%. The optimal proliferation medium was MS supplemented with 1.5 mg·L^{-1} 6-BA and 0.15 mg·L^{-1} IAA, yielding a proliferation coefficient of 5.23 and an average shoot height of 3.59 cm. The third subculture cycle showed the best proliferation performance, with a proliferation coefficient of 5.33. The optimal rooting medium was 1/2 MS supplemented with 0.3 mg·L^{-1} NAA, resulting in a rooting rate of 93.33%, an average of 3.95 roots per shoot, and an average root length of 3.63 cm. The highest survival rate (95.56%) was achieved when vermiculite∶perlite (1∶1) was used as the substrate.【Conclusion】This study established a relatively

收稿日期（Received）：2026-01-14　　**修订日期**（Revised）：2026-04-23
基金项目：贵州省科技厅科技支撑计划项目（黔科合支撑〔2026〕一般 281）；贵州省珍贵树种种苗繁育与人工林培育科技创新人才团队建设项目（黔科合平台人才 -CXTD〔2023〕006）；2024 年度中央林业草原生态保护恢复资金国家重点野生动植物保护补助项目（K24-0103-009）。
第一作者：龙超霞（18585886082@163.com），硕士研究生。**通信作者：**韦小丽（gdwxl2022@163.com），教授，博士研究生导师。
引文格式：龙超霞 , 王言 , 颜鹏露 , 等 . 珍稀濒危树种小叶红豆离体快繁技术体系的构建 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2026,46(10):210-219.
Long C X, Wang Y,Yan P L, et al. Establishment of an *in vitro* rapid propagation system for the rare and endangered tree species *Ormosia microphylla*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2026,46(10):210-219.

stable and efficient in vitro rapid propagation system for *O. microphylla*. Based on experimental investigations of key procedures including explant sterilization, bud induction and proliferation, subculture, rooting and acclimatization, this work provides a theoretical basis and technical support for the germplasm conservation and large-scale propagation of this species.

Keywords: *Ormosia microphylla*; *in vitro* rapid propagation; proliferation culture; rooting culture; acclimatization and transplanting

小叶红豆 *Ormosia microphylla* Merr. & H. Y. Chen 是豆科 Fabaceae 红豆属 *Ormosia* 落叶乔木，是该属中唯一被列为国家一级保护的野生植物 [1]。其木材坚硬细致，纹理通直，表面光泽独特，边材浅黄褐色，心材深紫红至紫黑色，质地坚实，在民间素有“紫檀木”之称，是制作高级家具及工艺美术品的优良材料 [2]。此外，小叶红豆在不同天气条件下叶色变化较为明显，常被称为“气象树”[3]。因此，小叶红豆具有极高的经济价值和生态价值。

小叶红豆的地理分布范围狭窄，主要分布于贵州、福建、广东、广西等地，并呈现出分布点零散、栖息地破碎化的特征 [4]，多生长在海拔 600 ～ 800 m 的山坡、坡脚、林中。由于栖息地破坏和过度采伐，小叶红豆的数量急剧减少，导致其成为濒临灭绝的物种，部分原分布区野生植株已极为罕见，迫切需要加强保护。此外，小叶红豆的自然繁殖能力受限，主要表现为种子的种皮蜡质坚硬、透性差而难以萌发 [5]，自然萌发周期可长达 2 年以上，且种子易遭鼠类和鸟类等动物取食，显著降低种子存活率并限制天然更新 [6]。据前期调查，贵州现存小叶红豆母树结实间隔期长，结实率极低，种子采集极为困难，有性繁殖受限进一步加剧了种群衰退。为此，开展组织培养技术研究是解决小叶红豆快速扩繁的重要途径。本研究以小叶红豆成熟种子为材料进行无菌苗培养试验，以萌发的无菌苗带芽茎段为外植体，研究不同培养基配方对丛生芽诱导、增殖和生根的影响。通过分析继代增殖的稳定性，筛选适宜的移栽基质，旨在构建一套稳定高效的组织培养快繁技术体系，为小叶红豆苗木种质资源保护与规模化繁殖提供理论依据和技术支撑。

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试材料为小叶红豆成熟种子，于 2024 年 10 月初采自贵州省黔东南苗族侗族自治州黎平县东风林场。采集后，种子置于 4 ℃冰箱中低温保存。

1.2　试验方法

1.2.1　不同种子预处理与消毒条件对无菌苗培养的影响

选取成熟饱满的种子用流水冲洗干净后，置于 72 ～ 80 ℃的热水中自然冷却并浸泡 24 h，使种子吸水膨胀。随后在超净工作台内进行表面消毒处理：先用 75%（v/v）乙醇浸泡 30 s，无菌水冲洗 3 ～ 5 次；再用 2%（w/v）NaClO 溶液消毒，设置 8、10 和 12 min 三个时间梯度，随后用无菌水冲洗 3 ～ 5 次。根据是否去除种皮分为两组：保留种皮组直接接种；去除种皮组在剥离种皮后，再用 2% NaClO 溶液消毒 2 min，并以无菌水冲洗 3 ～ 5 次。2 组种子均置于无菌滤纸上吸干表面水分后，播种于 MS+1.5 mg·L^{-1} 6-BA + 0.15 mg·L^{-1} IAA 培养基中。每处理设 3 次重复，每次重复播种 9 瓶，每瓶播种 1 粒种子。培养 15 d 后统计污染率，30 d 后统计褐化率和无菌苗获得率，筛选出最适宜的种子消毒方案（表 1）。

1.2.2　诱导、增殖培养

以生长健壮的无菌苗带芽茎段（长度≥ 1.0 cm）为外植体，采用 $L_9(3^3)$ 正交试验设计，探究不同培养基类型、6-BA 和 IAA 浓度对小叶红豆丛生芽诱导与增殖的影响（表 2）。试验共设 9 个处理组合，

表 1　小叶红豆种子消毒灭菌方案

Table 1　Disinfection and sterilization protocol of *O. microphylla* seeds

处理 Treatment	消毒方案 Disinfection protocol
X1	保留种皮：75% 酒精 30 s + 2% NaClO 溶液 8 min
X2	保留种皮：75% 酒精 30 s + 2% NaClO 溶液 10 min
X3	保留种皮：75% 酒精 30 s + 2% NaClO 溶液 12 min
X4	去除种皮：75% 酒精 30 s + 2% NaClO 溶液 8 min + 剥离种皮 + 2% NaClO 溶液 2 min
X5	去除种皮：75% 酒精 30 s + 2% NaClO 溶液 10 min + 剥离种皮 + 2% NaClO 溶液 2 min
X6	去除种皮：75% 酒精 30 s + 2% NaClO 溶液 12 min + 剥离种皮 + 2% NaClO 溶液 2 min

每处理 3 次重复，每次重复接种 9 瓶，每瓶接种 3 个带芽茎段。培养 45 d 后统计增殖系数和测定试管苗生长指标，筛选最适宜的增殖培养基。

表 2 丛生芽诱导增殖培养正交试验 $L_9(3^3)$ 因素水平
Table 2 Factor level of $L_9(3^3)$ orthogonal experiment for adventitious bud induction and proliferation

水平 Level	培养基 Medium	6-BA /(mg·L^{-1})	IAA /(mg·L^{-1})
1	WPM	0.5	0.05
2	1/2 MS	1.0	0.15
3	MS	1.5	0.5

1.2.3 继代培养

以 1.2.2 筛选获得的最适增殖培养基作为继代培养基。选取由种子萌发获得的初代无菌苗带芽茎段（长度≥ 1.0 cm）作为外植体，转接至继代培养基中。每次继代接种 30 瓶，每瓶接种 3 个带芽茎段，继代周期为 45 d。以初代无菌苗带芽茎段完成首次增殖培养记为第 1 次继代，后续依次类推。每个继代周期结束后，统计增殖系数并测定试管苗的生长指标，确定最适宜的继代培养次数。

1.2.4 生根培养

采用 $L_9(3^3)$ 正交试验设计，比较不同培养基类型、NAA 浓度和活性炭（AC）添加量对试管苗生根的影响（表 3）。将增殖培养 45 d 后、苗高≥3.0 cm的健壮无根芽苗转接至生根培养基中。每处理设 3 次重复，每次重复接种 9 瓶，每瓶接种 3 株试管苗。培养 45 d 后统计生根率及幼苗根数，筛选最适宜的生根培养基。

表 3 组培苗生根培养正交试验 $L_9(3^3)$ 因素水平
Table 3 Factor level of $L_9(3^3)$ orthogonal experiment for rooting culture of tissue-cultured seedlings

水平 Level	培养基 Medium	NAA /(mg·L^{-1})	活性炭 AC /(g·L^{-1})
1	1/2 MS	0.3	0
2	MS	0.5	0.1
3	WPM	1.0	0.5

1.2.5 炼苗与移栽

选取根系发达、生长健壮的试管苗，于自然光条件下适应 1 ～ 2 d 后，在组培室内开盖炼苗 3 d。随后取出幼苗，用流水洗净根部培养基残留物，并将根系在 0.1% 多菌灵溶液中浸泡 2 min 进行表面消毒，将处理后的幼苗移栽至经高压灭菌的不同配比基质中（表 4）。移栽后置于（20 ～ 24）℃条件下培养，每处理设 3 次重复，每次重复 15 株，30 d 后统计移栽成活率，筛选最适的移栽基质。

表 4 试管苗移栽不同基质配比
Table 4 Different substrate ratios for test tube seedling transplantation

编号 Number	基质 Medium	体积比 Volume ratio
T1	蛭石：珍珠岩	1∶1
T2	泥炭：珍珠岩	1∶1
T3	蛭石：泥炭：珍珠岩	1∶1∶1

1.3 培养条件

诱导增殖培养、生根培养均以 MS、1/2 MS 和 WPM 为基础培养基，均添加蔗糖 30 g·L^{-1}、琼脂 7 g·L^{-1}，pH 值 5.8，于 121 ℃条件下高压蒸汽灭菌 20 min。接种后的培养瓶置于培养室内，培养温度为（25 ± 2）℃，光照强度 2 500 lx，光照时间 12 h·d^{-1}。

1.4 数据计算及统计分析

1.4.1 数据计算

污染率 =（污染外植体数 / 接种外植体总数）× 100%

褐化率 =（褐化外植体数 / 接种外植体总数）× 100%

无菌苗获得率 =（未污染且萌发外植体数 / 接种外植体总数）×100%

增殖系数 = 增殖（或继代）培养后获得的有效芽数 / 初始接种的芽数

生根率 =（生根苗数 / 接种苗数）× 100%

移栽成活率 =（成活苗数 / 移栽苗总数）× 100%

1.4.2 统计分析

采用 Excel 2016 软件进行数据整理，使用 SPSS 26.0 软件进行统计分析，采用 Photoshop 2025 软件进行图片处理。

2 结果与分析

2.1 不同处理方式对小叶红豆种子消毒效果的影响

不同消毒处理对小叶红豆种子的灭菌效果表明（表 5 和图 1），消毒时长和种皮处理方式对种子的灭菌效果有显著影响。保留种皮并用 2% NaClO 溶液消毒 12 min 的效果最优，该条件下未出现污染，无菌苗获得率最高，达 70.37%，且褐化率（23.23%）处于可接受范围。消毒 8 min 处理虽然褐化率低，但污染率偏高；而消毒 10 min 能有效降低污染率，但无菌苗获得率明显低于 12 min

表 5　不同种皮处理方式与消毒时间对小叶红豆无菌苗培育效果的影响 †

Table 5　Effects of different seed coat treatment methods and disinfection time on the cultivation of aseptic seedlings of *O. microphylla*

处理方式 Treatment method	消毒时间 Disinfection time /min	污染率 Contamination rate /%	褐化率 Browning rate /%	无菌苗获得率 Aseptic seedling rate /%
保留种皮 Retain the seed coat	8	15.00 ± 2.00 a	0.00 ± 0.00 f	35.27 ± 1.67 c
	10	0.00 ± 0.00 c	13.82 ± 0.66 e	39.59 ± 6.41 bc
	12	0.00 ± 0.00 c	23.23 ± 4.44 d	70.37 ± 5.28 a
去除种皮 Remove the seed coat	8	7.00 ± 0.46 b	38.89 ± 0.87 c	32.23 ± 2.81 c
	10	0.00 ± 0.00 c	57.00 ± 3.08 b	43.09 ± 4.83 b
	12	0.00 ± 0.00 c	85.18 ± 0.60 a	36.59 ± 6.63 bc

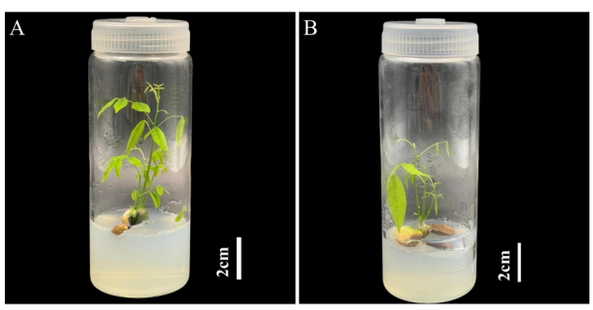
† 表中数据为均值 ± 标准差；不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。下同。
Data are presented as mean ± standard deviation; different lowercase letters indicate significant differences at the $P < 0.05$ level. The same below.

处理。去除种皮并二次消毒虽能有效控制污染，但随着消毒时间增加，褐化现象显著加剧，导致成活率大幅度下降。

综上，保留种皮并消毒 12 min（X3 处理）为最优方案，在未出现污染的同时，无菌苗获得率最高，且褐化率处于可接受范围。

2.2　不同培养基配方对小叶红豆诱导增殖的影响

不同处理组合下丛生芽诱导增殖与生长存在差异（表 6）。其中，Z9（A3B3C2）处理的增殖系数为 5.23，平均芽苗高为 3.59 cm，均显著高于其他处理，表明其对丛生芽增殖与生长的促进作用最明显。



A：保留种皮的处理方式（以 X3 为代表）；B：去除种皮的处理方式（以 X6 为代表）。
A: Treatment with seed coat retained (represented by X3); B: Treatment with seed coat removed (represented by X6).

图 1　不同种皮处理方式培养小叶红豆无菌苗效果比较

Fig. 1　Comparison of the effects of different seed coat treatment methods on cultivating aseptic seedlings of *O. microphylla*

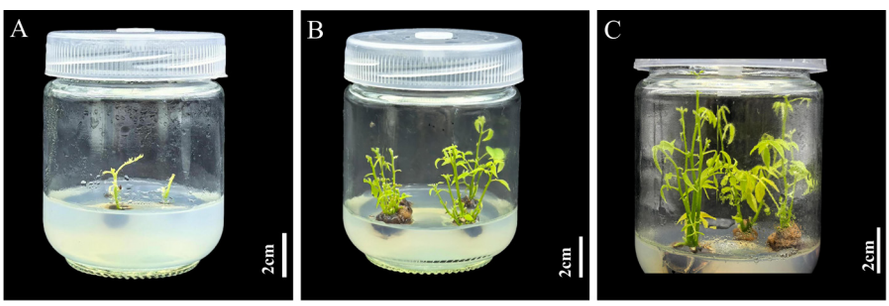
表 6　不同因素对小叶红豆丛生芽诱导增殖的极差分析 †

Table 6　Range analysis of different factors on the induction and proliferation of adventitious buds in *O.microphylla*

处理 Treatment	A	B	C	增殖系数 Proliferation coefficient	平均芽苗高 Average shoot height /cm
	培养基类型 Type of medium	6-BA /(mg·L^{-1})	IAA /(mg·L^{-1})		
Z1（A1B1C1）	WPM	0.50	0.05	1.07 ± 0.42 d	1.23 ± 0.29 d
Z2（A1B2C2）	WPM	1.00	0.15	1.03 ± 0.57 d	1.25 ± 0.35 d
Z3（A1B3C3）	WPM	1.50	0.50	1.01 ± 0.48 d	1.30 ± 0.22 d
Z4（A2B1C2）	1/2 MS	0.50	0.15	3.53 ± 0.84 c	2.41 ± 0.61 b
Z5（A2B2C3）	1/2 MS	1.00	0.50	4.03 ± 0.57 bc	1.86 ± 0.49 c
Z6（A2B3C1）	1/2 MS	1.50	0.05	3.80 ± 0.84 c	2.20 ± 0.46 bc
Z7（A3B1C3）	MS	0.50	0.05	3.67 ± 0.94 c	2.30 ± 0.28 bc
Z8（A3B2C1）	MS	1.00	0.50	3.57 ± 0.82 c	2.16 ± 0.58 bc
Z9（A3B3C2）	MS	1.50	0.15	5.23 ± 0.82 a	3.59 ± 0.64 a
k_{Pr1}	1.04	2.76	2.81		
k_{Pr2}	3.79	2.88	3.26		
k_{Pr3}	4.16	3.35	2.90		
R_{Pr}	3.12	0.59	0.45		
k_{H1}	1.26	1.98	1.86		
k_{H2}	2.16	1.76	2.42		
k_{H3}	2.68	2.36	1.82		
R_H	1.42	0.60	0.60		

† 表中 k 值代表各水平平均值；R 代表极差；Pr 代表增殖系数；H 代表平均芽苗高。下同。
The k value in the table represents the mean value of each level; R represents the range; Pr stands for proliferation coefficient; H represents the average shoot height. The same below.

正交试验直观分析结果显示，各因素对增殖系数的影响顺序为 A（培养基类型）＞ B（6-BA）＞ C（IAA）；对平均芽苗高的影响顺序为 A 最大，B、C 次之，表明基本培养基类型是影响丛生芽增殖效率与芽苗高生长的主导因子（图 2）。方差分析（表 7）进一步验证了上述趋势，不论是增殖系数还是平均芽苗高度，培养基类型（A）的影响均达到显著水平，而 6-BA（B）与 IAA（C）的效应不显著。因此，小叶红豆丛生芽诱导增殖的最优培养基组合为 A3B3C2（Z9 处理），配方为 MS+ 1.5 mg·L^{-1} 6-BA + 0.15 mg·L^{-1} IAA。为验证该配方的稳定性，进行重复验证试验。结果表明，A3B3C2 培养基（Z9 处理）的增殖系数达 5.30、平均芽苗高为 3.62 cm（表 8），说明该配方具有良好的增殖效果与较高的可重复性。



A: WPM 培养基中的增殖苗；B: 1/2 MS 培养基中的增殖苗；C: MS 培养基中的增殖苗。
A: Proliferated shoots cultured in WPM medium; B: Proliferated shoots cultured in 1/2 MS medium; C: Proliferated shoots cultured in MS medium.

图 2 不同培养基配方对小叶红豆诱导增殖的影响

Fig. 2 Effects of different culture media on proliferation induction of *O. microphylla*

表 7 小叶红豆丛生芽诱导及增殖影响因素方差分析 †

Table 7 Analysis of variance of factors influencing the induction and proliferation of adventitious buds of *O. microphylla*

指标 Index	因素 Factor	平方和 Sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean square	*F* 值 *F* value	显著性 Significance
增殖系数 Proliferation coefficient	A	17.43	2	8.72	18.62	*
	B	0.58	2	0.29	0.62	-
	C	0.34	2	0.17	0.36	-
	误差	0.94	8	0.12		
平均芽苗高 Average shoot height	A	42.00	2	21.00	63.00	*
	B	8.67	2	4.33	13.00	-
	C	8.67	2	4.33	13.00	-
	误差	0.67	8	0.08		

† * 表示差异显著（$P < 0.05$）；- 代表不显著。下同。* indicates a significant difference ($P < 0.05$); - indicates no significant difference. The same below.

表 8 最佳增殖培养基验证试验结果

Table 8 Verification test results of the optimal proliferation medium

处理 Treatment	接种苗数 Number of inoculated shoots / 瓶	增殖系数 Proliferation coefficient	平均芽苗高 Average shoot height /cm
MS + 1.5 mg·L^{-1} 6-BA + 0.15 mg·L^{-1} IAA	30	5.30±0.88	3.62±0.65

2.3 不同继代次数对小叶红豆组培苗增殖及生长的影响

不同继代次数对小叶红豆组培苗的增殖系数具有显著影响，但对芽苗高无显著影响（表 9）。随着继代次数的增加，增殖系数呈先升高后下降趋势。第 3 次继代培养的增殖效果最优，组培苗长势良好，叶片数量较多，植株健壮，增殖系数为 5.33，平均芽苗高为 3.89 cm（图 3C）。第 4 次继代培养的增殖系数下降至 5.07，虽然略低于第 3 次，但仍保持较高水平。综上所述，小叶红豆组培苗在继代过程中，第 3 次继代为最佳增殖节点，此时增殖效率最高，且芽苗质量最优。但在规模化生产中，仍可考虑延续至 4 次继代。

2.4 不同培养基配方对小叶红豆组培苗生根的影响

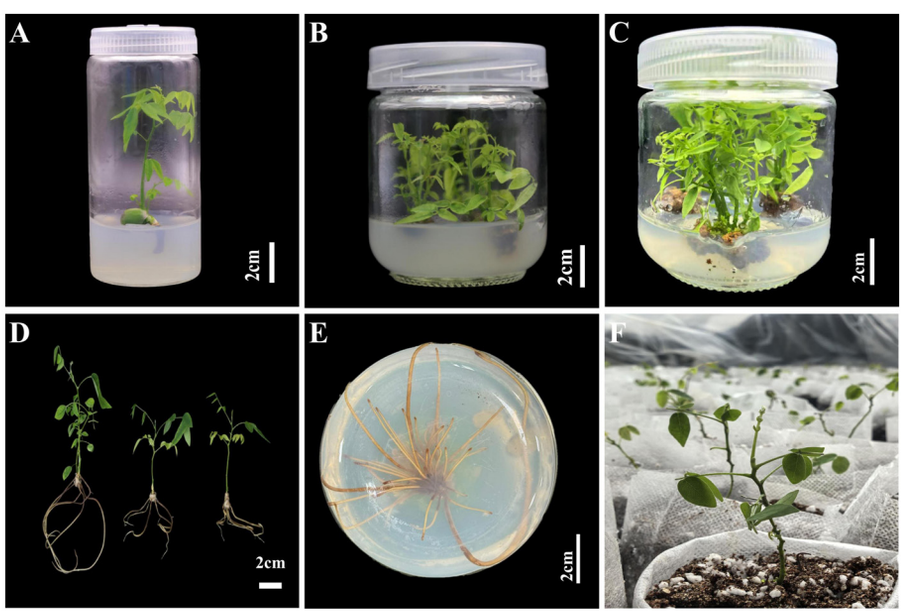
不同培养基对小叶红豆组培苗生根具有显著影响（表 10）。其中，S1 处理的生根率为 93.33%，

平均生根数为 3.95 条，平均根长为 3.63 cm（图 3D-E），表明该配方既能有效诱导不定根发生，也有利于根系健壮形成。S7 处理的生根率最低（36.67%），但平均根长相对较高（4.76 cm），表明小叶红豆生根诱导与根伸长可能受不同机制调控。

表 9　不同继代次数对小叶红豆丛生芽增殖和生长的影响

Table 9　Effects of different subculture times on the proliferation and growth of clustered shoots of *O. microphylla*

继代次数 Subculture times	增殖系数 Proliferation coefficient	平均芽苗高 Average shoot height /cm	生长状况 Growth status
1	4.30 ± 0.87 d	3.44 ± 0.60 a	长势一般，丛生芽较少，叶片较少
2	4.87 ± 0.69 c	3.57 ± 0.28 a	长势较好，丛生芽较多，叶片较多
3	5.33 ± 0.67 a	3.89 ± 0.76 a	长势好，丛生芽多且健壮，叶片多
4	5.07 ± 0.92 b	3.65 ± 0.91 a	长势好，丛生芽多且健壮，叶片多



A：种子培养 30 d 后萌芽情况；B：诱导增殖的丛生芽；C：继代培养 3 次的丛生芽；D、E：无根芽苗生根；F：试管苗移栽 30 d 后

A: Germination status of seeds after 30 days of culture; B: Induced proliferated shoot clusters; C: Shoot clusters after 3 subcultures; D and E: Root induction of rootless shoots; F: Transplanted tissue-cultured plantlets 30 days after transplanting

图 3　小叶红豆离体快繁图片

Fig. 3　*In vitro* rapid propagation of *O. microphylla*

正交试验的直观分析结果如表 10 所示，各因素对生根率影响的主次顺序为 A（培养基类型）> C（活性炭）> B（NAA），表明基本培养基类型是影响组培苗生根的关键因素，方差分析结果与之相一致（表 11）。因素 A 对生根率的影响达到显著水平，而 NAA 浓度（B）与活性炭（C）效应不显著。不同生根配方对平均生根数与平均根长未表现出显著影响。

综合极差分析与方差分析结果，并以生根率作为主要筛选指标，确定小叶红豆组培苗生根的较优配方为 A1B1C1（1/2 MS + 0.3 mg·L^{-1} NAA），即正交试验中的 S1 处理，该配方在正交试验中表现出最高生根率与较高的根系质量。为验证该结果的可靠性，使用 A1B1C1 配方进行重复培养试验。验证结果（表 12）显示，生根率达 96.67%，平均生根数 4.05 条，平均根长 3.59 cm，进一步证实该配方能稳定、有效地促进小叶红豆组培苗生根。

2.5　不同基质对小叶红豆炼苗与移栽的影响

小叶红豆生根试管苗的移栽试验结果表明（表 13），不同基质配比对移栽成活率及植株生长均有一定影响。T1 基质（蛭石：珍珠岩 = 1∶1）的移栽成活率均值最高（95.56%），但与泥炭：珍珠岩 =1∶1 处理（90.23%）差异不显著，两者均表现出较高的移栽成活水平，且植株生长健壮、整齐一致。泥炭：蛭石：珍珠岩 =1∶1∶1 基质的成活率略低，为 80.02%，但植株仍表现出较好的生长状态。综上，蛭石：珍珠岩 =1∶1 可作为小叶红豆试管苗移栽的最适基质。生根苗经炼苗后能够顺利移栽，表明本研究建立的生根体系能够满足后续移栽需求。

表 10 不同因素对小叶红豆组培苗生根影响的极差分析 †

Table 10 Range analysis of the effects of different factors on the rooting of tissue-cultured seedlings of *O. microphylla*

处理 Treatment	A 培养基类型 Medium type	B NAA /(mg·L^{-1})	C 活性炭 AC /(g·L^{-1})	生根率 Rooting rate /%	平均生根数 Average number of roots / 条	平均根长 Average root length /cm
S1(A1B1C1)	1/2 MS	0.3	0.0	93.33 ± 14.05 a	3.95 ± 0.74 a	3.63 ± 0.83 b
S2(A1B2C2)	1/2 MS	0.5	0.1	86.67 ± 17.21 a	3.93 ± 0.57 a	1.93 ± 0.44 e
S3(A1B3C3)	1/2 MS	1.0	0.5	85.26 ± 17.21 a	3.80 ± 0.79 ab	2.65 ± 0.81 c
S4(A2B1C2)	MS	0.3	0.1	66.67 ± 15.71 b	2.33 ± 0.83 cd	1.79 ± 0.36 e
S5(A2B2C3)	MS	0.5	0.5	53.33 ± 17.21 bc	1.80 ± 1.14 e	4.85 ± 0.32 a
S6(A2B3C1)	MS	1.0	0.0	56.67 ± 16.10 bc	2.97 ± 0.74 bc	1.58 ± 0.36 e
S7(A3B1C3)	WPM	0.3	0.5	36.67 ± 10.54 c	1.09 ± 0.32 f	4.76 ± 0.18 a
S8(A3B2C1)	WPM	0.5	0.0	56.67 ± 16.10 bc	3.06 ± 0.74 bc	2.36 ± 0.40 cd
S9(A3B3C2)	WPM	1.0	0.1	52.63 ± 17.21 bc	3.84 ± 0.63 ab	3.56 ± 0.39 b
k_{r1}	88.42	65.56	68.89			
k_{r2}	58.89	65.56	68.66			
k_{r3}	48.66	64.85	58.42			
R_r	39.76	0.71	10.47			
k_{N1}	3.89	2.46	3.33			
k_{N2}	2.37	2.93	3.37			
k_{N3}	2.66	3.54	2.23			
R_N	1.52	1.08	1.14			
k_{L1}	2.74	3.39	2.52			
k_{L2}	2.74	3.05	2.43			
k_{L3}	3.56	2.60	4.09			
R_L	0.82	0.79	1.66			

† 表中 r 代表生根率；N 代表平均生根数；L 代表平均根长。
In the table, r represents the rooting rate; N represents the average number of roots; L represents the average root length.

表 11 小叶红豆组培苗生根影响因素的方差分析

Table 11 Analysis of variance of factors influencing rooting of tissue-culture seedlings of *O. microphylla*

性状 Trait	因素 Factor	平方和 Sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean square	*F* 值 *F* value	显著性 Significance
生根率 Rooting rate	A	2 557.86	2	1 278.93	18.04	*
	B	0.99	2	0.49	0.01	-
	C	214.46	2	107.23	1.51	-
	误差 Error	141.75	8	17.72		
平均根数 Average number of roots	A	3.93	2	1.97	8.51	-
	B	1.76	2	0.88	3.80	-
	C	2.50	2	1.25	5.40	-
	误差 Error	0.46	8	0.06		
平均根长 Average root length	A	1.35	2	0.68	0.28	-
	B	0.96	2	0.48	0.20	-
	C	5.21	2	2.60	1.07	-
	误差 Error	4.87	8	0.61		

表 12 最佳生根培养基验证试验结果

Table 12 Validation result of the optimal rooting medium

处理 Treatment	接种苗数 Number of inoculated shoots / 瓶	生根率 Rooting rate /%	平均生根数 Average number of roots / 条	平均根长 Average root length /cm
1/2 MS + 0.3 mg·L^{-1} NAA	30	96.67±10.54	4.05±0.74	3.59±0.66

表 13　不同基质配比对小叶红豆试管苗移栽的影响
Table 13　Effects of different substrate ratios on the transplantation of tissue-cultured seedlings of *O. microphylla*

处理 Treatment	基质 Substrate	成活率 Survival rate /%	生长情况 Growth condition
T1	蛭石∶珍珠岩 =1∶1	95.56±9.09 a	长势优，植株整齐
T2	泥炭∶珍珠岩 =1∶1	90.23±10.02 a	长势较优，植株整齐
T3	泥炭∶蛭石∶珍珠岩 =1∶1∶1	80.02±16.80 b	长势良好，植株较整齐

3　讨　论

无菌体系的构建是植物组织培养成功的基础，对于以无菌苗茎段为外植体的组织培养，种子的处理方式及消毒时间直接影响无菌苗的获得率。小叶红豆种质资源匮乏，且存在结实率低、种子萌发困难等问题。因此，建立高效且低损耗的灭菌体系尤为重要。本研究结果表明，保留种皮并用 2% NaClO 溶液消毒 12 min 效果最佳，在未出现污染的情况下获得了最高无菌苗获得率（70.37%），褐化率为 23.23%。已有研究指出，适当延长消毒时间可降低污染率，但也可能加重外植体氧化损伤和褐化 [7-8]。本研究中，保留种皮可能在一定程度上减弱了消毒剂对胚和分生组织的直接伤害，有利于维持种子活力 [9]。这一结果与花榈木组织培养中保留种皮优于剥离种皮的报道一致 [10]，说明对于种皮较厚、胚较敏感的豆科树种，保留种皮更有利于无菌体系的建立。但本研究中的褐化率（23.23%）仍有进一步优化空间，后续可通过优化消毒方案或培养条件提高无菌体系质量。

基础培养基的盐度与营养组成对木本植物离体培养具有阶段性影响，同一树种在不同培养阶段对培养基的需求往往不同 [11-13]。本研究结果也表明，培养基类型是调控小叶红豆增殖与生根的关键因素。增殖阶段，MS 培养基的芽诱导效果显著优于 1/2 MS 和 WPM，说明该阶段小叶红豆对较高的无机盐浓度和较充足的矿质营养更为适应，这与鄂西红豆 [14]、珍珠相思 [15] 等的研究结果一致。而在生根阶段，1/2 MS 培养基的生根效果优于 MS 和 WPM，表明低盐环境更利于根原基诱导与根系伸长，符合木本植物中普遍的低盐促生根规律 [16]。

植物生长调节剂是调控芽增殖与生根过程的关键因素。在增殖阶段，6-BA 与 IAA 的组合常用于促进腋芽萌发和丛生芽形成。其中，IAA 作为天然生长素，能够协同细胞分裂素诱导细胞分裂与分化，且较 NAA 作用更温和，不易引起愈伤组织过度增生。本研究中，虽然 6-BA 和 IAA 在所设浓度范围内的效应均未达到显著水平，但不同组合间仍表现出明显差异，其中 Z9 处理（MS + 1.5 mg·L^{-1} 6-BA + 0.15 mg·L^{-1} IAA）的增殖效果最佳，表明在本试验浓度范围内，较高浓度 6-BA 配合较低浓度 IAA 的组合更有利于丛生芽增殖。这一结果与花榈木 [17]、阔叶黄檀 [18] 等豆科植物的研究结果基本一致。在生根阶段，NAA 是常用的生根诱导剂，其活性较 IAA 更稳定，能有效促进根原基分化。本研究中，NAA 浓度为 0.3 mg·L^{-1} 时生根效果最佳（93.33%），浓度升高反而导致生根率下降。此外，添加活性炭未显著提升生根效果，且随浓度升高生根率呈下降趋势，可能与其吸附培养基中的生长调节物质或关键营养成分有关 [19]。因此，不添加活性炭，单独使用 0.3 mg·L^{-1} NAA 即可获得稳定高效的生根效果。

继代次数是决定组培苗增殖效率与生长质量的重要因素。本研究中，小叶红豆组培苗的增殖系数随继代次数增加呈先升后降趋势，第 3 次继代时达最高值（5.33），第 4 次继代略降至 5.07，但仍保持较高水平，且芽体生长健壮、增殖芽数量较多。这一现象与轮生冬青 [20]、胡颓子叶梨 [21] 等的研究结果一致。其原因可能与内源激素水平变化有关，随着继代次数增加，激素平衡被打破，从而影响芽体正常分化与增殖，导致增殖系数下降 [22]。该现象在马大杂种相思 [23] 和毛叶枣 [24] 等树种中也有报道。因此，规模化生产中应根据组培苗生长状况适时调整培养基激素配比，尤其在多次继代后适当降低细胞分裂素浓度，以维持较高的增殖效率与芽苗质量。

炼苗与移栽是组培苗从离体环境过渡至自然条件的关键环节，直接影响到植株的成活率及后续生长。本研究中，以蛭石∶珍珠岩 =1∶1 为基质时，试管苗成活率最高（95.56%），植株生长健壮、整齐一致。蛭石与珍珠岩均为无机材料，孔隙度大、排水透气性好，有利于根际气体交换，减少根腐发生，这与 Boudreault 等 [25] 关于基质通气性影响根系生长的观点一致。而泥炭保水性较强，若水分管理不当易导致根际缺氧，抑制根系恢复。因此，蛭石∶珍珠岩 =1∶1 可作为小叶红豆试管苗移栽的推荐基质。

小叶红豆离体快繁技术体系的建立，可为缓解实生繁殖受限提供技术途径。该研究结果不仅

可为小叶红豆种质资源保存与规模化扩繁提供技术支撑，也有助于今后开展其优良无性系的扩繁，为该濒危树种的保护与可持续利用奠定了基础。本研究仅以种子无菌萌发的芽苗茎段作为外植体进行了组织培养试验，今后将进一步开展其他类型外植体的扩繁研究，进一步优化增殖及移栽试验，提高增殖效率和移栽成活率，形成成熟的可商品化应用技术。

4 结 论

本研究以小叶红豆成熟种子为材料，开展无菌苗培养、芽诱导与增殖、继代培养、生根、炼苗与移栽等一系列试验。结果表明，最佳种子消毒方案为保留种皮、2% NaClO 溶液消毒 12 min，该条件下未出现污染，且无菌苗获得率高达 70.37%。最适增殖培养基为 MS + 1.5 mg·L^{-1} 6-BA + 0.15 mg·L^{-1} IAA，增殖系数为 5.23。第 3 次继代为最佳增殖节点，第 4 次继代增殖系数略有下降，但仍保持较高水平，表明在实际生产中可以考虑进行至少 4 次继代。生根阶段，1/2 MS + 0.3 mg·L^{-1} NAA 为最优培养基，生根率为 93.33%。移栽试验表明，以蛭石：珍珠岩 =1∶1 为基质移栽成活率最高（95.56%）。本研究可为小叶红豆的种质资源保存与规模化繁殖提供系统的技术方案，同时为该物种的野外回归及生态恢复提供理论支持和实践依据。

参考文献：

[1] 国家林业和草原局 农业农村部 . 国家重点保护野生植物名录 (第 二 批)[EB/OL]. [2025-02-20]. https://www.forestry.gov.cn/main/3457/20210915/143259505655181.html.
National Forestry and Grassland Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. List of National Key Protected Wild Plants (Second Batch)[EB/OL]. [2025-02-20]. https://www.forestry.gov.cn/main/3457/20210915/143259505655181.html.

[2] 唐健民 , 秦惠珍 , 梁慧 , 等 . 小叶红豆种苗质量分级研究 [J]. 特种经济动植物 ,2023,26(5):40-42.
Tang J M, Qin H Z, Liang H, et al. Study on quality grading of *Ormosia microphylla* seedlings[J]. Special Economic Animals and Plants,2023,26(5):40-42.

[3] Liu B, Weng H Y, Ye X Z, et al. Simulation of potential geographical distribution and migration pattern with climate change of *Ormosia microphylla* Merr. & H. Y. Chen[J]. Forests, 2024,15:1209.

[4] Wei L J, Wang G H, Xie C P, et al. Predicting suitable habitat for the endangered tree *Ormosia microphylla* in China[J]. Scientific Reports,2024,14: 10330.

[5] 何碧珠 , 罗焕玲 , 冯晓霞 . 一种小叶红豆种子催芽方法 : CN103609226A[P]. 2014-03-05.
He B Z, Luo H L, Feng X X. A method for accelerating seed germination of *Ormosia microphylla*: CN103609226A[P]. 2014-03-05.

[6] Janzen D H. Seed predation by animals[J]. Annual Review of Ecology and Systematics,1971,2:465-492.

[7] 李倩 . 花榈木及木荚红豆组织培养技术初步研究 [D]. 广州 : 华南农业大学 ,2018:15-18.
Li Q. A preliminary study on the tissue culture technology of the rare legumes of the *Ormosia henryi* and *Ormosia xylocarpa*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University,2018:15-18.

[8] 努尔麦麦提·艾麦提 , 刘巧玲 , 刘彬 , 等 . 大果沙枣组培快繁体系的建立 [J]. 植物生理学报 ,2025,61(10):1435-1442.
Nuermaimaiti·Aimaiti, Liu Q L, Liu B, et al. Establishment of tissue culture and rapid propagation system for *Elaeagnus moorcroftii*[J]. Plant Physiology Journal,2025,61(10):1435-1442.

[9] 易礼江 , 荣道军 , 罗勇志 , 等 . 丹霞梧桐组织培养技术研究 [J]. 林业科技 ,2023,48(5):27-30.
Yi L J, Rong D J, Luo Y Z, et al. Study on tissue culture and propagation of *Firmiana danxiaensis* seeds[J]. Forestry Science & Technology,2023,48(5):27-30.

[10] 王智华 , 李倩 , 张素芳 , 等 . 花榈木组织培养再生体系的建立及优化 [J]. 江苏农业科学 ,2024,52(4):50-55.
Wang Z H, Li Q, Zhang S F, et al. Establishment and optimization of tissue culture regeneration system for *Ormosia henryi*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences,2024,52(4):50-55.

[11] 权志珣 , 燕丽萍 , 王因花 , 等 . 元宝枫组织培养与快速繁殖技术 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2024,44(1):119-127,139.
Quan Z X, Yan L P, Wang Y H, et al. Tissue culture and rapid propagation technology of *Acer truncatum*[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2024,44(1): 119-127,139.

[12] 卜祥潘 , 黎俊伶 , 窦玉洁 , 等 . 火焰卫矛微型快繁关键技术的建立 [J]. 中南林业科技大学学报 ,2020,40(10):79-86.
Bu X P, Li J L, Dou Y J, et al. Establishment of micropropagation in *Euonymus alatus* cv. 'Compacta'[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2020,40(10):79-86.

[13] 范小峰 , 卜婷 , 刘丽萍 , 等 . 刺槐组培快繁体系的建立 [J]. 林业科技通讯 ,2021(10): 66-69.
Fan X F, Bu T, Liu L P, et al. Establishment of tissue culture and rapid *in-vitro* propagation system for *Robinia pseudoacacia*[J]. Forest Science and Technology,2021(10):66-69.

[14] 何碧珠 , 郜祥雄 , 彭东辉 , 等 . 鄂西红豆离体培养及植株再生研究 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版),2015,43(12): 49-57.

He B Z, Gao X X, Peng D H, et al. Tissue culturing and plantlet regeneration of *Ormosia hosiei* Hemsl. & Wils.[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2015,43(12):49-57.

[15] 武爱龙 , 潘浩汉 , 吴建阳 . 珍珠相思种子外植体组织培养与快速繁殖 [J]. 园艺与种苗 ,2023,43(2):13-18.
Wu A L, Pan H H, Wu J Y. Tissue culture and rapid propagation of Acacia podalyriifolia seed explants[J]. Horticulture & Seed,2023,43(2):13-18.

[16] 杨丽 . 珍稀濒危树种香果树再生及遗传转化体系的建立 [D]. 武汉 : 华中农业大学 ,2024:35-38.
Yang L. Establishment of regeneration and genetic transformation system for the rare and endangered species *Emmenopterys henryi*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2024:35-38.

[17] 乔栋 . 花榈木组织培养技术研究 [D]. 贵阳 : 贵州大学 ,2016:22-26.
Qiao D. Studies on the tissue culture of *Ormosia henryi* Prain[D]. Guiyang: Guizhou University,2016:22-26.

[18] Subasinghe S, Warakagoda P S, Abeywickrama W H T. *In vitro* shoot proliferation of rosewood (*Dalbergia latifolia*, Fabaceae): a potent high-quality timber species[J]. Tropical Agricultural Research & Extension,2015,18(2):94-101.

[19] 刘晓红 , 王娅帆 , 吕婉嘉 , 等 . 基于正交试验的地被小菊组培苗生根培养体系优化 [J]. 植物生理学报 ,2023,59(4):782-791.
Liu X H, Wang Y F, Lyu W J, et al. Optimization of the rooting culture system of *Chrysanthemum morifolium* tissue culture seedlings based on an orthogonal experiment[J]. Plant Physiology Journal,2023,59(4):782-791.

[20] 王欢 , 杜凤国 , 兰河 , 等 . 观果树种轮生冬青离体快繁技术 [J]. 东北林业大学学报 ,2017,45(12):27-31.
Wang H, Du F G, Lan H, et al. Rapid *in vitro* propagation system of *Ilex verticillata*[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2017,45(12):27-31.

[21] Aygun A, Dumanoglu H. *In vitro* shoot proliferation and *in vitro* and *ex vitro* root formation of *Pyrus elaeagrifolia* Pallas[J]. Frontiers in Plant Science,2015,6:225.

[22] Zhang X L, Lu M, Li M, et al. Efficient callus induction and regeneration of tea plant (*Camellia sinensis*)[J]. Scientific Reports,2025,15:26848.

[23] 施琼 , 胡峰 , 黄烈健 , 等 . 马大杂种相思腋芽高效组培增殖体系 [J]. 林业科学 ,2014,50(6):55-60.
Shi Q, Hu F, Huang L J, et al. An efficient axillary bud multiplication system of *Acacia mangium* × *A. auriculiformis*[J]. Scientia Silvae Sinicae,2014,50(6):55-60.

[24] 续九如 , 李春立 , 孙建设 . 毛叶枣组培快繁技术研究 [J]. 北京林业大学学报 ,2003,25(3):28-32.
Xu J R, Li C L, Sun J S. Micropropagation of ber (*Ziziphus mauritiana* Lam.)[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2003,25(3):28-32.

[25] Boudreault S, Caron J, Lamhamedi M S, et al. Comparison of hydraulic and aeration properties of peat substrates used to produce containerized white spruce seedlings (1+0) in forest nurseries[J]. Forests,2023,14:858.

[本文编校：吴　彬]